韭菜组织培养及快速繁殖技术研究

李勇¹,杨桦¹,龙蔚¹,陈立新²

(1. 江西省林业科学院,江西 南昌,330032;2. 江西省泰和县林业局,江西 泰和 343700)

摘 要:采用韭菜花托作为外植体进行组织培养,通过对生长调节剂不同浓度组合的对比试验,筛选出 MS+6-BA1.0mg/L+NAA0.1mg/L 为最佳诱导培养基,MS+6-BA0.5mg/L+IAA1.0mg/L+KTO.2mg/L 为最佳增殖培养基,使用 MS+IAA0.50mg/L 可取得很好的生根效果,移栽成活率达95%以上。

关键词:韭菜;组织培养;快速繁殖;外植体

中图分类号:S633.3 文献标识码:A 文章编号:1001-8581(2006)04-0106-02

韭菜(Allium tuberosum. Rottl)别名草钟乳、起阳草,为百合科葱属多年生宿根草本植物。本次试验的四季韭菜花在适宜条件下一年四季都能开花且产量极高,但在常规繁殖中发现该品种自然分蘖较少,短期内无法大量生产,我们采用花托进行组织培养,对该品种进行快速繁殖技术进行了研究,为批量生产提供一定的理论依据。

1 材料与方法

- 1.1 试验材料 选用从浙江引进的四季韭菜花的花托作为外植体。
- 1.2 试验方法 外植体的诱导:于晴天上午采健壮、无病害的韭菜植株上花未张开的韭薹,先用清水洗净上面的 尘土,再用毛笔蘸肥皂水将材料洗干净,流水冲洗2~4h后,在超净工作台上消毒处理:酒精浸泡30s,用浓度为 0.1%的 HgCl₂ 溶液浸洗 8min,无菌水冲洗6~8次,剥去苞片以后,切取内部花序,接种于添加不同种类和浓度激素的 MS 培养基上;培养条件:恒温 23 ±2℃,暗培养 15d 后转入光下培养,光照强度 1000~1500lx,光照时间 10~12h。

增殖培养:将诱导培养出来的芽团切成直径为 0.5cm 大小接入增殖培养基内,以 15~20d 为一周期;培养条件:恒温 23±2℃,光照强度 1500~2000lx,光照时间 10~12h。

生根培养:将增殖培养生产的苗用手术刀剔为单株,切除叶上半部,留 2cm 长植株接入生根培养基内,培养 20~30d 左右即生根。

2 结果与分析

- 2.1 无菌外植体的诱导 将未开放的伞形花序的花苞切断,仅留花托插入诱导培养基内,培养基配方为以下 4种:1号 MS+6-BA0.5mg/L(单位下同);2号 MS+6-BA1.0;3号 MS+6-BA1.0+NAA0.1;4号 MS+6-BA0.5+NAA0.1。约20d 左右会从花托基部长出叶片并有少量愈伤组织产生,然后将进瓶的花序转入新的诱导培养基内,5d 后长势明显,愈伤组织上有少量芽萌发。其中 3号培养基内长出较多叶片,约5cm 长,以20~30d 为一周期,转瓶至第 4代时,3号培养基内苗有明显增殖,增殖率为1.5,其次为 4号及 2号培养基,增殖很少,1号培养基基本无增殖。
- 2.2 增殖培养 将诱导出的芽团连同愈伤组织一起转入增殖培养基内进行增殖培养以提高芽的分化率,为了对生长素进行适宜浓度的选择,在基本培养基 MS 中添加不同剂量的吲哚乙酸(IAA),浓度分别为 0.05、0.10、0.25、0.50、0.75、1.00mg/L,以上培养基均加入 6 BAO.5mg/L。经过 20d 的培养后,芽团基部愈伤组织增大,不定芽萌出。愈伤及不定芽数随着 IAA 浓度的增加而增加,愈伤增殖率也增加,经比较采用 MS + 6 BAO.5 + IAA1.0 培养基的韭菜组培苗叶细而短,长势明显优于其它配方,愈伤增殖率可达 3.5,每瓶组培苗平均萌发 11 个芽,是比较适合的韭菜增殖培养基配方。

在第一轮增殖试验的基础上添加其它激素并适当调整进行第二轮增殖试验并以 MS +6 - BAO.5 + IAA1.0 作为对照,试验配方及结果如表 1 所示。

从表1可以看出,增加细胞分裂素6-BA的含量并不能提高韭菜增殖率,仅促成大团愈伤增殖,叶片抽长且较粗,6-BA浓度达到4mg/L后,大团叶片出现了玻化,不利于韭菜增殖。而采用激动素 KT,则以0.5~1.0mg/L的

效果较好,苗的长势较壮,叶细而嫩,高度齐,增殖率较高,浓度达到 2.0 mg/L 后叶片出现了玻璃化,芽开始畸形。 采用 2 种细胞分裂素搭配使用即在对照培养基中添加 KT 后,11 号和 12 号的效果很好,与对照相比,苗粗细均匀, 高度整齐,叶片鲜嫩,增殖较好。采用 11 号培养基可取得最佳的增殖培养效果。

编号	培养基配方(mg/L)	生长状况	增殖率(倍)
1	MS+6-BA1.0+IAA1.0	芽从球茎上直接长出,叶长7~8cm	2.3
2	MS + 6 - BA2.0 + IAA1.0	叶粗,高5~6cm,成团的愈伤增殖较多	1.5~2.0
3	MS + 6 - BA3.0 + IAA1.0	增殖较多,愈伤多,叶长打卷5~7cm	2.1 ~2.5
4	MS + 6 - BA4.0 + IAA1.0	增殖较少,愈伤多而透明,大团叶片玻化	1.2 ~ 1.5
5	MS + KTO. 1 + IAA1. 0	叶细而密,较嫩,有部分生根	1.0~1.2
6	MS + KTO.5 + IAA1.0	长势较好,叶细而密,长3~5cm	1.5~2.0
7	MS + KT1.0 + IAA1.0	长势较好,叶嫩而细,长5~6cm	3.0
8	MS + KT2.0 + IAA1.0	叶较短,部分玻璃化,有愈伤	2.0 ~ 2.5
9	MS + KT3.0 + IAA1.0	叶较短,基部畸形,长势不好	1.5
10	MS + KT4.0 + IAA1.0	芽畸形,长势不好	1.7
11	MS + 6 - BA0.5 + IAA1.0 + KT0.2	长势很好,增殖很多,叶粗细均匀,长4~5cm	2.5~3.2
12	MS + 6 - BA0.5 + IAA1.0 + KT0.5	长势较好,叶细,长 6cm	2.0~2.5
13	MS + 6 - BA0.5 + IAA1.0 + KT1.0	长势较好,叶较粗,长6~7cm	1.0~1.2
14	MS + 6 - BA0.5 + IAA1.0 + KT2.0	长势一般,叶粗细不均,长短不一	1.5
CK	MS + 6 - BA0.5 + IAA1.0	长势较好、叶多细短、长 3~4cm	3.5

表 1 不同浓度激素的培养基对韭菜增殖的影响

2.3 生根培养 对增殖的韭菜组培苗进行生根培养,从表 2 可以看出,韭菜生根较慢,采用 3 号培养基的生根效果最好,第 20d 生根率可达 82%,27d 时生根率为 90%,并且采用该培养基生根整齐,根数多在 4~6 根以上,较嫩易移栽。其次为 9 号 5 号 4 号培养基,均能取得较好的生根效果,生根率均在 80%以上。

将使用吲哚乙酸(IAA)和使用奈乙酸(NAA)的生根苗进行比较,可以明显看出,采用 IAA 的苗生根较齐,根多、白、细、嫩,较易移栽。采用 NAA 的苗生根较少,一般 2~4 根,较粗,清洗时易脱落。

编号	培养基配方 (mg/L)	第 20d 生根率 (%)	第 27d 生根率 (%)	编号	培养基配方 (mg/L)	第 20d 生根率 (%)	第 27d 生根率 (%)
1	MS	73	74	6	MS + IAA3.0	77	79
2	MS + IAA0.1	68	70	7	MS + NAA0.2	66	70
3	MS + IAA0.5	82	90	8	MS + NAA0.5	63	68
4	MS + IAA1.0	75	80	9	MS + NAA1.0	82	86
5	MS + IAA2.0	80	87	 			

表 2 不同浓度激素的培养基对韭菜生根培养的影响

2.4 组培苗的移栽 将生根培养得到的生根瓶苗连瓶从培养间移至有充足自然光的通风处进行 2~3d 的温度、湿度及光照适应。经过适应锻炼的组培苗用清水洗净基部的培养基,剪去长叶片,只留 2~3cm 长的植株,种植在沙床上,覆膜保湿。第1周每天叶片喷水 5~6次保持叶面水分,1周后减少喷水次数,半个月后逐步揭膜,成活率可达95%以上,1个月后苗高可达 20cm 以上,即能移栽入大田种植。

3 小结

韭菜进瓶采用花托作为外植体可取得较好的进瓶效果,用 MS+6-BA1.0+NAA0.1 诱导至第 4 代时即可取得 1.5 倍左右的增殖率。

MS+6-BA0.5+IAA1.0作为增殖配方可取得较高的增殖率,而添加 KTO.2~0.5mg/L 可以使组培增殖苗更加健壮、均匀,为最适增殖培养基。

韭菜生根较慢,需要 $20 \sim 30$ d 才能生根完全,采用 MS + IAA0.5 ~ 2.0 及 MS + NAA1.0 均能取得较好的生根效果,最适生根培养基为 MS + IAA0.5。

参考文献:

- [1] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991.
- [2] 王志敏,宋明. 韭菜组织培养研究进展[J]. 长江蔬菜,2003,(9):32~34.
- [3] 郝建平,周小梅,李绍清. 韭菜花序培养与植株再生[J]. 山西大学学报(自然科学版),1995,18(1):59~62.